

## 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini diketahui dengan melakukan analisa fisik yaitu daya patah dan kekerasan, serta analisa kimia yaitu kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar karbohidrat, dan kadar kalsium. Selain itu, juga dilakukan analisa organoleptik yaitu uji hedonik dan skoring. Sebelum dilakukan pembuatan biskuit, dilakukan analisa kimia pada tepung tulang ikan barakuda. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui karakteristik kimia dari tepung tulang yang merupakan bahan campuran dalam pembuatan biskuit sehingga dapat diketahui peningkatan kualitas produk dari awal sebelum diproses sampai terbentuk produk yang sudah jadi.

#### 4.1.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan, dilakukan pembuatan tepung tulang ikan barakuda dan pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang. Lalu, ditentukan konsentrasi tepung tulang barakuda terbaik berdasarkan kadar proksimat yang mendekati syarat mutu biskuit dan daya terima masyarakat. Adapun analisa yang dilakukan pada bahan yaitu analisa kadar air, protein, lemak, karbohidrat, abu dan kalsium yang dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 1. Hasil Analisa Kimia Tepung Tulang Barakuda

No.	Parameter	Jumlah(%)	Standar Tepung Tulang Ikan		
			Mutu 1	Mutu 2	Komersial (ISA, 2002)
1.	Kadar Air	4,25	Maks 8	Maks 8	3,6
2.	Kadar Lemak	1,5	3	6	5,6
3.	Kadar Abu	65,58	-	-	33,1
4.	Kadar Protein	5,19	-	-	34,2
5.	Kadar Karbohidrat	23,48	-	-	23,5
6.	Kadar Kalsium	46,1	Min 20	Min 30	11,9

Dari hasil proksimat tersebut menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tersebut memenuhi standar SNI baik pada mutu 1 maupun mutu 2. Bila dibandingkan dengan standar ISA (2002), pada kadar air, abu, dan kalsium hasil

yang diperoleh masih lebih tinggi dari standar yang ditetapkan International of Seafood Alaska [ISA] 2002.

Pada hasil analisa kadar air didapatkan hasil lebih tinggi dari standar ISA (2002) yaitu sebesar 4,25%. Menurut Winarno dan Fardiaz (1973), perbedaan kadar air tersebut dipengaruhi oleh metode pembuatan tepung tulang ikan serta metode pengeringan tepung. Hasil analisa kadar abu juga menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari standar ISA (2002) yaitu sebesar 65,58%. Tingginya kadar abu pada tepung tulang ikan barakuda disebabkan karena besarnya komponen penyusun utama tulang yaitu garam mineral. Menurut Frandson (1992) di dalam tulang terkandung sel-sel hidup dan matrik intraseluler dalam bentuk garam mineral. Garam mineral merupakan komponen yang terdiri dari kalsium fosfat sebanyak 80% dan sisa terdiri dari kalsium karbonat dan magnesium fosfat.

Pada hasil analisa kadar kalsium juga didapatkan hasil lebih tinggi dari standar ISA (2002) yaitu sebesar 46,1%. Dari hasil tersebut, perbedaan besarnya kadar kalsium disebabkan karena perbedaan spesies ikan. Menurut Martinez *et al.* (1998), kandungan mineral juga bergantung pada faktor ekologis seperti musim, tempat pembesaran, jumlah nutrisi tersedia, suhu dan salinitas ikan.

Selain itu, faktor lainnya adalah metode pembuatan yang berbeda sekalipun spesies ikan sama. Penggunaan bahan basa atau asam, suhu, waktu dan metode yang berbeda akan menghasilkan tepung tulang ikan barakuda dengan kadar kalsium yang berbeda pula. Menurut Cucikodana *et al.* (2012), rerata kadar kalsium bubuk tulang ikan mengalami kenaikan seiring peningkatan suhu dan konsentrasi NaOH karena suhu ekstraksi dan larutan NaOH memungkinkan banyaknya kalsium yang mengendap dalam matrik-matrik tulang ikan, karena protein terdenaturasi sehingga kalsium bubuk tulang ikan semakin meningkat.

Pada penelitian pendahuluan juga didapatkan hasil analisa proksimat dan organoleptik biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda. Hasil analisa proksimat biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 2. Hasil Analisa Proksimat Biskuit Bebas dan Gluten Pada Penelitian Pendahuluan

No.	Sampel	Parameter (%)					
		Protein	Abu	Karbohidrat	Lemak	Air	Kalsium
1	Biskuit 0%	7,55	1,1	73,8	9,15	8,4	0,4
2	Biskuit 2%	5,19	3,38	58,58	25,05	7,8	3,6
3	Biskuit 4%	2,96	3,82	64,17	24,65	4,4	6,8
4	Biskuit 6%	2,67	7,92	65,46	22,1	1,85	7,1

Pada penelitian pendahuluan, selain dilakukan uji proksimat juga dilakukan uji organoleptik terhadap biskuit bebas gluten dan kasein. Pengujian organoleptik ini dilakukan oleh 15 panelis yang tidak terlatih. Hasil uji organoleptik biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik Biskuit Bebas dan Gluten Pada Penelitian Pendahuluan

Parameter	Perlakuan			
	A	B	C	D
Warna	3,67	3,47	3,47	3,27
Aroma	3,47	3,33	3,33	3,07
Rasa	3,73	3,6	3,47	3,27
Tekstur	3,47	3,53	3,13	3,2

Berdasarkan hasil analisa proksimat dan uji organoleptik disimpulkan bahwa kadar tepung tulang ikan barakuda terbaik adalah 2%. Hal ini disebabkan karena pada hasil analisa proksimat, pada penambahan tepung tulang 2%, hasil analisa proksimat mendekati nilai syarat mutu biskuit SNI (1992). Selain itu, pada hasil organoleptik, dibandingkan dengan kadar 4% dan 6%, biskuit 2% lebih diminati, terutama dari segi tekstur dengan nilai rata-rata sebesar 3,53 (agak menyukai). Namun, jika dibandingkan biskuit kontrol atau biskuit 0%, hasil

organoleptik biskuit 2% masih lebih rendah. Pada hasil organoleptik secara keseluruhan dapat diketahui bahwa daya terima masyarakat pada parameter warna, rasa, aroma, dan tekstur adalah netral (agak menyukai) dengan nilai sebesar 3. Hal ini disebabkan karena panelis yang menguji memiliki kesukaan (*preference*) yang berbeda pada tiap parameter dan panelis yang menguji juga bukan dari panelis terlatih.

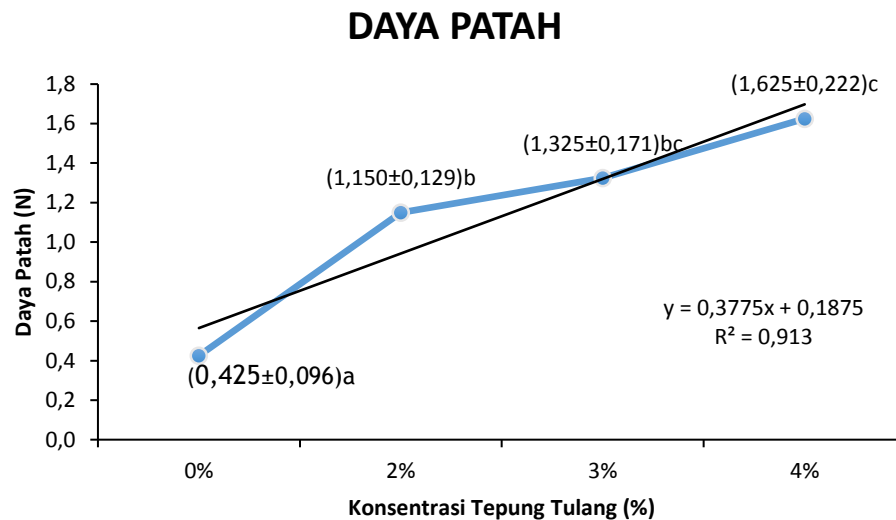
#### **4.1.2 Hasil Penelitian Utama**

##### **4.1.2.1 Karakteristik Fisik Biskuit**

Pada penelitian ini, proporsi tepung tulang barakuda diduga menentukan mutu dari biskuit yang dihasilkan. Pada pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein ini, mutu biskuit ditentukan dari beberapa parameter fisik biskuit seperti daya patah dan kekerasan.

##### **4.1.2.1.1 Daya Patah**

Daya patah sangat penting untuk mengetahui karakteristik tekstur dari kerapuhan dan kerenyahan seperti snack bar, biskuit dan produk sereal. Menurut Rani dan Susanto (2015), daya patah bahan pangan menunjukkan ketahanan bahan pangan tersebut terhadap tekanan yang diberikan dan juga berhubungan dengan tingkat kerenyahan produk. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh signifikan pada penambahan tepung tulang ikan barakuda (*Sphyræna barracuda*) terhadap daya patah biskuit bebas gluten dan kasein. Perbedaan dapat dilihat pada grafik dibawah ini.



Gambar 1. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Daya Patah Biskuit

Grafik diatas menunjukkan linier positif dengan persamaan regresi  $y = 0,3775x + 0,1875$  dengan nilai  $R^2 = 0,913$ . Hal ini berarti bahwa daya patah pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,913 yang artinya 91,3% daya patah biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda. Hal ini diduga karena kandungan kadar air pada biskuit menurun seiring dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda sehingga mempengaruhi daya patah biskuit. Menurut Jauhariyah (2013), semakin tinggi kadar air suatu bahan, maka semakin rendah daya patah yang dihasilkan karena tekstur menjadi lembut dan lembek. Adanya air dalam rongga-rongga antar sel suatu bahan dapat menurunkan kekakuan sel sehingga akan menurunkan daya patah produk (Febrianty *et al.*, 2015).

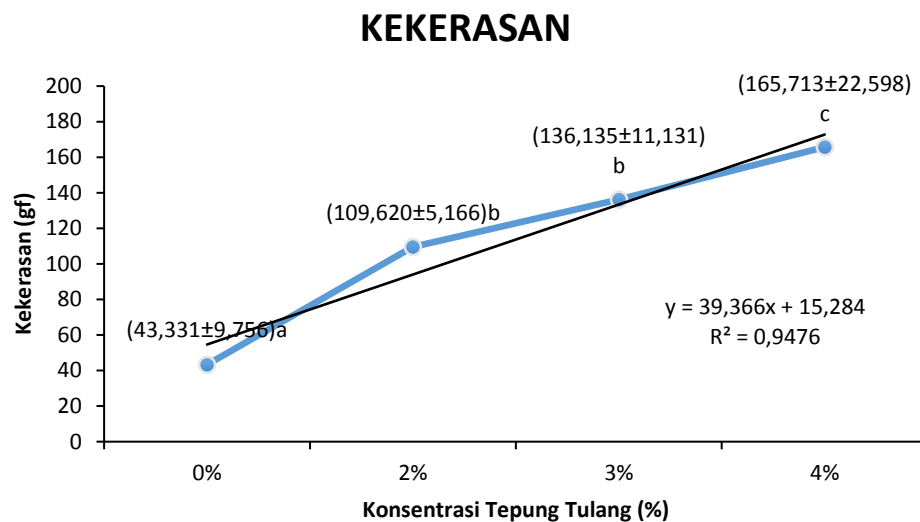
Hasil uji daya patah pada penelitian ini meningkat juga disebabkan oleh penurunan kadar lemak seiring dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda. Benion (1980) menyatakan produk yang mengandung lemak banyak akan lebih mudah dipatahkan. Hal ini karena adanya lemak yang akan melumasi struktur

internal biskuit. Interaksi antara pati, protein dan lemak akan menghasilkan produk bertekstur renyah karena air yang terlepas dari pati tidak terperangkap secara maksimal oleh protein yang telah terlumasi oleh lemak. Sebaliknya, produk yang mengandung sedikit lemak akan meningkatkan daya patah produk.

Hasil uji daya patah biskuit bebas gluten dan kasein dari masing-masing perlakuan tersebut lebih rendah dari nilai daya patah biskuit komersial yaitu minimal 11.1 N dan penelitian Tanjung dan Kusnadi (2015) diperoleh berkisar 8.4 N hingga mendekati 10.6 N meningkat seiring dengan peningkatan protein. Rendahnya hasil daya patah pada penelitian ini dengan biskuit komersial dan penelitian sebelumnya dimungkinkan karena luas permukaan biskuit yang berbeda, kadar lemak, kadar air dan kadar kalsium yang berbeda. Kalsium berperan sebagai kation yang dapat berinteraksi dengan gugus karboksil bebas dari protein membentuk jembatan kalsium yang menyebabkan tekstur menjadi kaku (Lesmana *et al.*, 2008).

#### **4.1.2.1.2 Kekerasan**

Tekstur termasuk salah satu indikator mutu yang cukup penting pada biskuit. Salah satu bagian dari tekstur yang dapat menentukan mutu biskuit adalah kekerasan (*hardness*). Kekerasan merupakan faktor kritis, karena kekerasan merupakan salah satu parameter dari penerimaan konsumen terhadap produk biskuit (Lewis, 1987). Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh signifikan pada penambahan tepung tulang ikan barakuda (*Sphyræna barracuda*) terhadap kekerasan biskuit bebas gluten dan kasein. Perbedaan dapat dilihat pada grafik dibawah ini.



Gambar 2. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kekerasan Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kekerasan biskuit menunjukkan linier positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 39,366x + 15,284$  dengan nilai  $R^2 = 0,9476$ . Hal ini berarti bahwa kekerasan pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,9476 yang artinya 94,76% kekerasan biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda.

Kekerasan pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dikarenakan kadar air biskuit semakin menurun seiring dengan penambahan tepung tulang ikan. Besarnya daya ikat air mempengaruhi tingkat kekerasan biskuit, karena semakin banyak air yang diserap maka produk yang dihasilkan akan semakin lunak. Hal ini juga terjadi pada biskuit dengan penambahan tepung tulang barakuda dimana semakin tinggi penambahannya maka kadar air biskuit semakin rendah dan dapat diartikan semakin tinggi nilai kekerasannya. Faktor yang mempengaruhi nilai tingkat kekerasan biskuit ialah formulasi biskuit, ketebalan biskuit serta konsentrasi tepung tulang yang ditambahkan (Pratama *et al.*, 2014).

Hasil uji kekerasan biskuit bebas gluten dan kasein dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan nilai kekerasan biskuit komersial yaitu rata-rata 1129,2 gf. Hasil uji kekerasan dalam penelitian ini juga lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Tanjung dan Kusnadi (2015) yang memperoleh nilai kekerasan berkisar 881.6 gf hingga mendekati 1082.2 gf. Rendahnya hasil kekerasan biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda pada penelitian ini dimungkinkan karena perbedaan jenis tepung yang digunakan. Pada pembuatan biskuit komersial dan penelitian sebelumnya menggunakan tepung dengan kadar protein lebih tinggi. Biskuit komersial menggunakan tepung terigu yang kaya akan protein gluten, sedangkan penelitian Tanjung dan Kusnadi (2015) memiliki protein lebih tinggi dikarenakan adanya penambahan tepung kacang hijau.

#### **4.1.2.2 Karakteristik Kimia Biskuit**

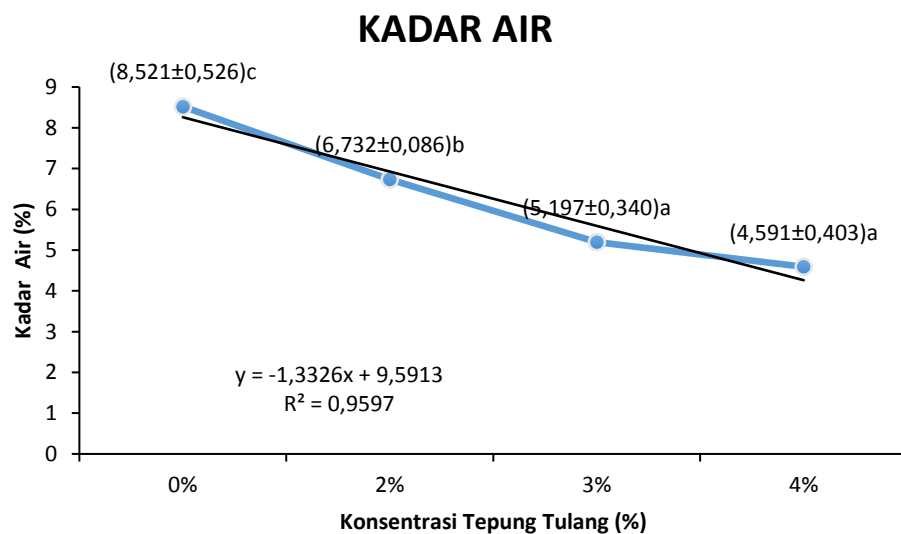
Pada penelitian ini, mutu biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda diketahui dari karakteristik kimia yang didapat melalui uji proksimat yang terdiri dari analisa kadar air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat serta kadar kalsium.

##### **4.1.2.2.1 Kadar Air**

Kadar air digunakan untuk melihat kandungan air dalam pangan per satuan bobot bahan. Banyak sedikitnya kadar air pada suatu bahan tergantung dari bagaimana air tersebut terikat dengan makromolekul (protein dan karbohidrat). Kadar air mempunyai peranan penting dalam menentukan daya awet dari bahan pangan karena dapat mempengaruhi sifat fisik, perubahan kimia, perubahan mikrobiologi dan perubahan enzimatik. Bahan pangan yang mempunyai kadar air yang rendah dapat memberikan keuntungan yaitu bahan akan menjadi lebih tahan lama dan awet bila disimpan (Talib, 2015).



Berdasarkan hasil dari pengujian kadar air biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar air tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 0% sebesar 8,521% sedangkan nilai kadar air terendah diperoleh pada perlakuan 4% sebesar 4,591%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar air biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 3. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Air Biskuit

Gambar 6 yang merupakan hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar air biskuit menunjukkan linier negatif. Persamaan regresinya adalah  $y = -1,3326x + 9,5913$  dengan nilai  $R^2 = 0,9597$ . Hal ini berarti bahwa kadar air pada biskuit bebas gluten dan kasein menurun dengan nilai koefisien 0,9597 yang artinya 95,97% kadar air biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda. Hal ini didukung oleh Linder (1992) bahwa dengan adanya penambahan tepung tulang ikan terjadi penambahan partikel  $\text{Ca}^{2+}$  yang akan mengikat partikel  $\text{OH}^-$  yang merupakan bagian dari unsur-unsur air atau  $\text{H}_2\text{O}$  sehingga kadar air berkurang seiring dengan penambahan tepung tulang ikan.

Selain itu, peristiwa berkurangnya kadar air dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein ini disebabkan karena adanya interaksi yang kuat antara protein dan kalsium yang membentuk suatu jaringan protein-kalsium yang rapat akibat dari sifat fungsional protein yaitu gelasi. Jaringan yang terbentuk rapat tersebut menyebabkan jumlah air terperangkap semakin kecil (Lesmana *et al.*, 2008).

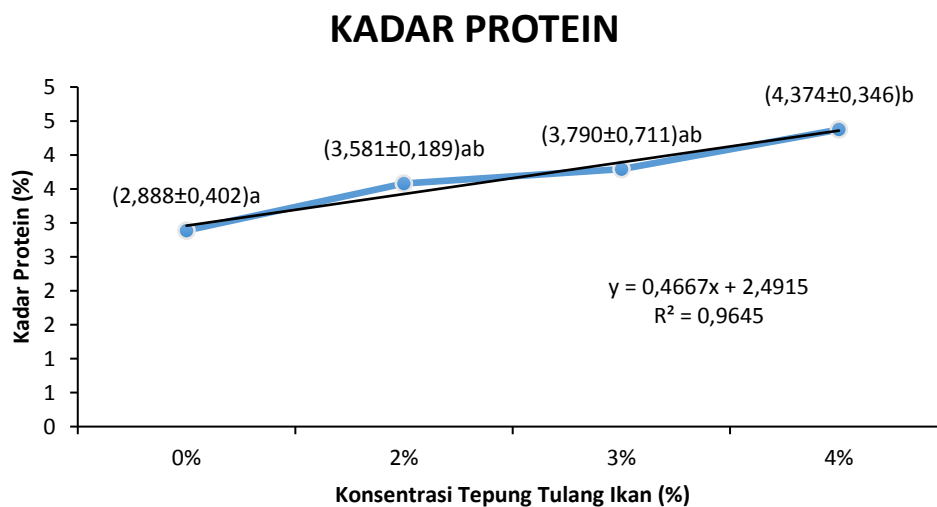
Proses pemanggangan juga berpengaruh terhadap penurunan kadar air dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein ini. Dalam proses pemanggangan banyak air yang terevaporasi dari adonan biskuit. Manley (2000) selama pemanggangan terjadi kehilangan kadar air dari permukaan produk oleh evaporasi yang diikuti perpindahan kelembaban ke permukaan yang terus-menerus hilang ke lingkungan oven.

Pada beberapa perlakuan penambahan tepung tulang ikan barakuda pada hasil kadar air dalam penelitian ini masih memenuhi SNI 01-2973-1992 bahwa kadar air biskuit maksimal adalah 5%. Akan tetapi, jika hasil tersebut dibandingkan dengan kadar air biskuit komersial yaitu sebesar 2,64%, maka kadar air penelitian ini lebih tinggi. Kadar air yang dihasilkan lebih tinggi karena perbedaan kekayaan formulasi bahan, metode pembuatan tepung, metode pengeringan dan perbedaan jenis ikan serta ukuran tulang. Pada produk komersial tidak terdapat penambahan tepung tulang ikan tetapi menggunakan tepung terigu.

#### **4.1.2.2.2 Kadar Protein**

Protein merupakan suatu zat makanan yang sangat penting bagi tubuh, hal ini dikarenakan protein disamping berfungsi sebagai bahan baku dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur serta sebagai imunitas dalam tubuh. Pada umumnya kadar protein dalam bahan pangan menentukan mutu bahan pangan tersebut (Winarno dan Surono, 2002).

Hasil dari pengujian kadar protein biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar protein tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 4% sebesar 4,374% sedangkan nilai kadar protein terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 2,888%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar protein biskuit dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 4. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Protein Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar protein biskuit menunjukkan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 0,4667x + 2,4915$  dengan nilai  $R^2 = 0,9645$ . Hal ini berarti bahwa kadar protein pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,9645 yang artinya 96,45% kadar protein biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda.

Peningkatan kadar protein biskuit seiring dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda diduga karena adanya kandungan protein berupa kolagen. Winarno (1997) menyatakan bahwa protein tulang ikan sebagian besar terdiri atas protein kolagen. Pada saat pembuatan tepung tulang ikan, kolagen mengalami

denaturasi ketika dipanaskan dalam larutan pada suhu 30-40°C. Tetapi tidak ada ikatan kovalen pada kerangka rantai polipeptida yang rusak sehingga deret asam amino khas protein tetap utuh setelah denaturasi (Ockerman dan Hansen, 2000).

Tinggi atau rendahnya nilai protein yang terukur dapat dipengaruhi oleh besarnya kandungan air yang hilang (dehidrasi) dari bahan. Nilai protein yang terukur akan semakin besar. Petenuci *et al.* (2008) menyatakan komposisi proksimat yang tinggi dari nilai protein, lemak dan abu dapat diakibatkan oleh kehilangan air sehingga nutrisi terkonsentrasikan pada saat pengolahan.

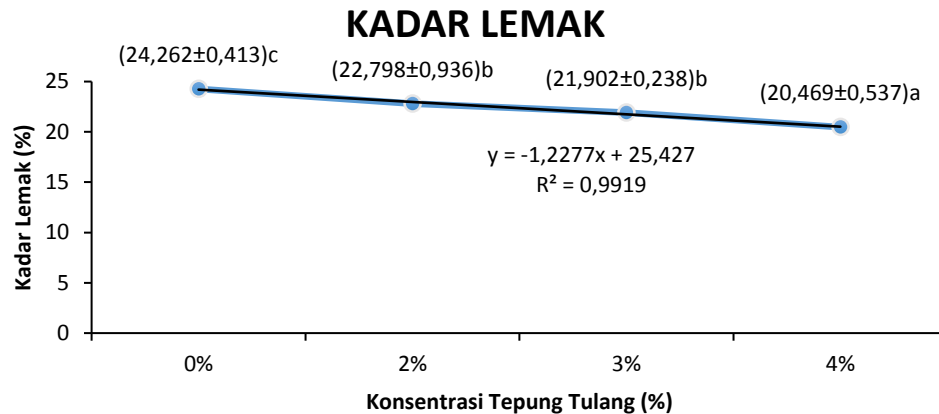
Hasil penelitian kadar protein biskuit bebas gluten dan kasein dari masing-masing perlakuan tersebut tidak sesuai dengan SNI (1992) mengenai biskuit yaitu minimal 9% dan biskuit komersial dengan rerata 6,52%. Hal ini dikarenakan perbedaan bahan yang digunakan, Sebranek (2013) menyatakan kandungan protein yang terukur tergantung pada jumlah bahan-bahan yang ditambahkan. Biskuit yang dijadikan standar SNI diduga menggunakan bahan utama tepung terigu yang kadar proteinnya lebih tinggi dari tepung maizena dan tepung tulang ikan yang digunakan dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein.

#### **4.1.2.2.3 Kadar Lemak**

Manley (2000) menyatakan bahwa lemak merupakan bahan baku paling penting dalam pembuatan biskuit. Fungsi utama lemak dalam pembuatan biskuit adalah sebagai pengemulsi, tetapi selain itu lemak juga berfungsi sebagai pembentuk cita rasa dan memberikan tekstur pada biskuit. Sifat fisikokimia lemak dan minyak dapat mempengaruhi mutu, umur simpan dan karakteristik pangan yang dihasilkan (Kusnandar, 2010).

Hasil dari pengujian kadar lemak biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar lemak tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 0% sebesar 24,262%

sedangkan nilai kadar lemak terendah diperoleh pada perlakuan 4% sebesar 20,469%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar lemak biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 5. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Lemak Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar lemak biskuit menunjukkan negatif. Persamaan regresinya adalah  $y = -1,2277x + 25,427$  dengan nilai  $R^2 = 0,9919$ . Hal ini berarti bahwa kadar lemak pada biskuit bebas gluten dan kasein menurun dengan nilai koefisien 0,9919 yang artinya 99,19% kadar lemak biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda.

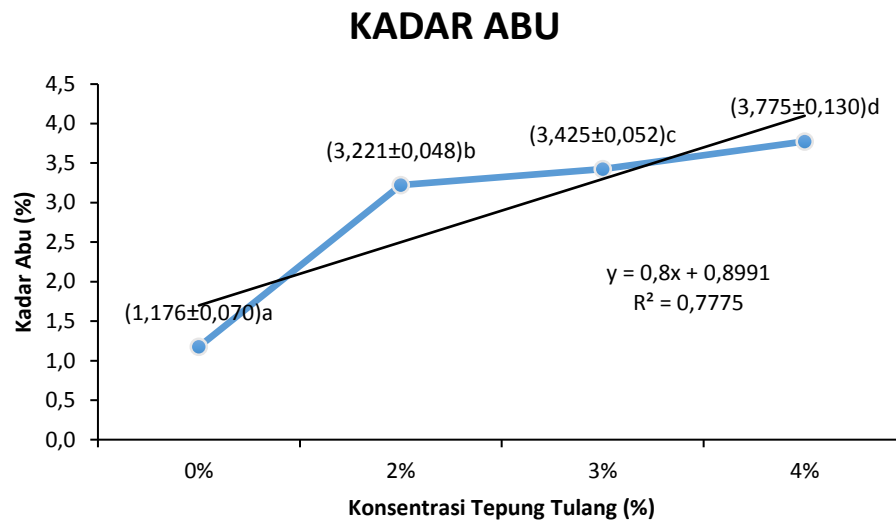
Penurunan kadar lemak pada penelitian ini dikarenakan kandungan nutrisi lain seperti protein dan abu dalam uji proksimat meningkat seiring adanya penambahan tepung tulang barakuda dan melewati proses pemanggangan sehingga nilai kadar lemak pada biskuit menurun. Windsor (2001) menyatakan proses pemanasan ketika pemanggangan juga akan mempengaruhi kandungan lemak biskuit. Protein akan terkoagulasi jika bahan dipanaskan sehingga banyak dari air dan lemak akan keluar. Denaturasi protein pada jaringan dalam tingkatan yang dapat menyebabkan sifat emulsifikasi protein (Hassan, 1988)

Jika dibandingkan dengan SNI 01-2973-1992 mengenai produk biskuit bahwa, kadar lemak biskuit minimum 9,5% maka produk biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda memenuhi standar SNI karena lebih tinggi dari standar yang ditentukan. Sama halnya jika dibandingkan dengan biskuit komersial, kadar lemak biskuit penelitian ini lebih tinggi, dimana kadar lemak biskuit komersial rerata sebesar 15,96%.

#### **4.1.2.2.4 Kadar Abu**

Menurut Sudarmadji *et al.* (1996), kadar abu merupakan campuran dari zat anorganik atau mineral yang terdapat pada suatu bahan pangan. Kadar abu suatu bahan menggambarkan banyaknya mineral yang tidak terbakar menjadi zat yang dapat menguap. Semakin besar kadar abu suatu bahan makanan, menunjukkan semakin tinggi mineral yang dikandung oleh makanan tersebut (Pratama *et al.*, 2014).

Hasil dari pengujian kadar abu biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar abu tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 4% sebesar 3,775% sedangkan nilai kadar abu terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 1,176%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar abu biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 6. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Abu Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar abu biskuit menunjukkan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 0,8x + 0,8991$  dengan nilai  $R^2 = 0,7775$ . Hal ini berarti bahwa kadar abu pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,7775 yang artinya 77,75% kadar abu biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda.

Peningkatan kadar abu dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein disebabkan oleh adanya penambahan tepung tulang ikan barakuda yang merupakan sumber kalsium yang dihitung sebagai mineral dalam produk. Selain itu, peningkatan kadar abu dimungkinkan karena adanya interaksi yang kuat antara protein dengan kalsium dari tepung tulang ikan. Winarno (2004) menjelaskan interaksi protein dengan kalsium dimulai dengan terbukanya struktur tersier protein yang tidak berpasangan. Gugus-gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) dari protein yang tidak berpasangan inilah yang kemudian berpasangan dengan ion  $\text{Ca}^+$  dan membentuk suatu jaringan ikat silang ( $\text{COOCa}$ ) yang kuat. Kadar abu yang cenderung meningkat dimungkinkan juga karena ada penambahan bahan

yang mengandung garam dan zat kimia yang mengandung kapur (Vavrusova dan Skibsted, 2014).

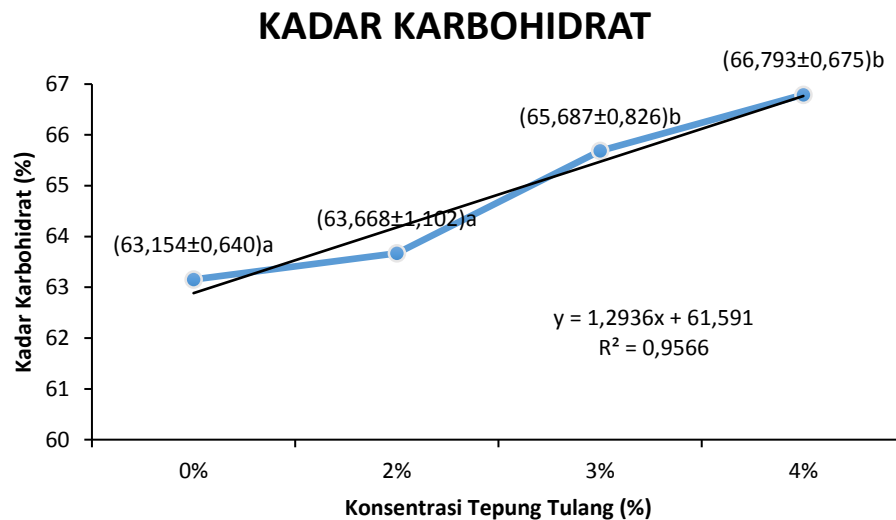
Hasil kadar abu dalam penelitian ini tidak sesuai dengan standar yang ada, kadar abu biskuit bebas gluten dan kasein lebih tinggi dari SNI (1992) yaitu maksimum 1,5%. Sama halnya jika dibandingkan dengan kadar abu biskuit komersial, kadar biskuit bebas gluten dan kasein dalam penelitian ini lebih tinggi, dimana kadar abu biskuit komersial yang diperoleh sebesar 1,77%. Kadar abu tinggi yang diperoleh biskuit bebas gluten dan kasein dikarenakan adanya penambahan tepung tulang ikan barakuda sebagai sumber kalsium.

#### **4.1.2.2.5 Kadar Karbohidrat**

Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur, dan lain-lain. Kadar karbohidrat ditentukan *by difference* yaitu hasil pengurangan 100% dengan kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein sehingga kadar karbohidrat bergantung pada faktor pengurangnya. Hal ini karena karbohidrat sangat berpengaruh pada faktor kandungan zat gizi lainnya (Winarno, 1997).

Hasil dari pengujian kadar karbohidrat biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar karbohidrat tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 4% sebesar 66,793% sedangkan nilai kadar karbohidrat terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 63,154%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar karbohidrat biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 10.





Gambar 7. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Karbohidrat Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar karbohidrat biskuit menunjukkan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 1,2936x + 61,591$  dengan nilai  $R^2 = 0,9566$ . Hal ini berarti bahwa kadar karbohidrat pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,9566 yang artinya 95,66% kadar karbohidrat biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda. Seiring dengan penambahan tepung tulang ikan, kadar air biskuit berkurang, sehingga berpengaruh terhadap kadar karbohidrat biskuit. Pratama *et al.*, 2014) menyatakan pengurangan kandungan air yang terjadi dapat berpengaruh terhadap hasil pengukuran peningkatan maupun penurunan nilai karbohidrat sama seperti nilai kadar proksimat lainnya. Kandungan karbohidrat pada biskuit yang tinggi juga bisa dikarenakan adanya penambahan gula (Passos *et al.*, 2013).

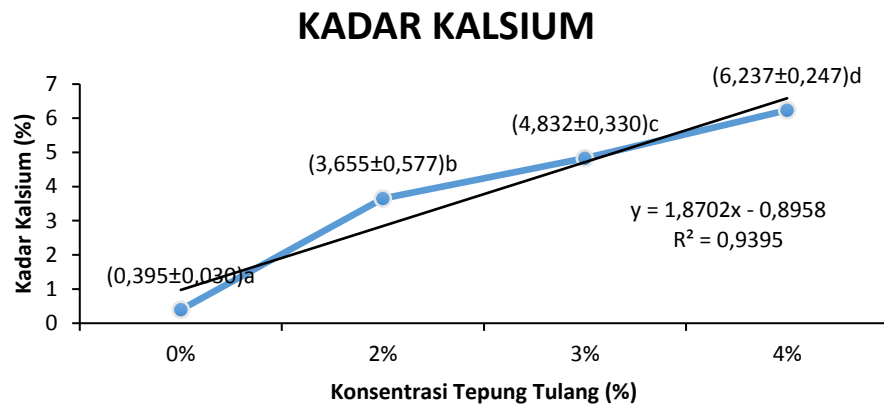
Hasil kadar karbohidrat dalam penelitian ini tidak sesuai dengan standar yang ada, kadar karbohidrat biskuit bebas gluten dan kasein lebih rendah dari SNI (1992) yaitu minimum 70%. Sama halnya jika dibandingkan dengan kadar

karbohidrat biskuit komersial, kadar biskuit bebas gluten dan kasein dalam penelitian ini lebih rendah, dimana kadar karbohidrat biskuit komersial yang diperoleh sebesar 73,11%. Perbedaan kadar karbohidrat yang diperoleh biskuit bebas gluten dan kasein dengan biskuit SNI maupun komersial dikarenakan adanya perbedaan kekayaan formulasi sebagai sumber karbohidrat. Pada biskuit bebas gluten dan kasein, sumber karbohidrat terbesar diperoleh dari tepung maizena.

#### **4.1.2.2.6 Kadar Kalsium**

Menurut Marks (1996) kalsium adalah senyawa kimia golongan II A yang merupakan makro mineral yang sangat diperlukan oleh tubuh manusia. Kalsium merupakan bahan pembentuk tulang, gigi dan jaringan lunak serta berperan dalam berbagai proses metabolisme dalam tubuh (Winarno, 1997).

Hasil dari pengujian kadar kalsium biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata kadar kalsium tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 4% sebesar 6,237% sedangkan nilai kadar kalsium terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 0,395%. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap kadar kalsium biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 8. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Kadar Kalsium Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap kadar kalsium biskuit menunjukkan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 1,8702x + 0,8958$  dengan nilai  $R^2 = 0,9395$ . Hal ini berarti bahwa kadar kalsium pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,9395 yang artinya 93,95% kadar kalsium biskuit disebabkan oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda, dimana kadar kalsium tulang ikan barakuda 42,22% (Muhammad, 2012). Selain itu, hal ini kemungkinan disebabkan adanya peningkatan kadar protein, protein berperan sebagai agen pengikat kalsium. Pada protein terdapat gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) yang akan melepaskan ion  $\text{H}^+$  sehingga menjadi  $\text{COO}^-$  dan berikatan dengan  $\text{Ca}^{2+}$ . Dibutuhkan dua asam amino untuk mengikat ion  $\text{Ca}^{2+}$  (Liu *et al.*, 1990).

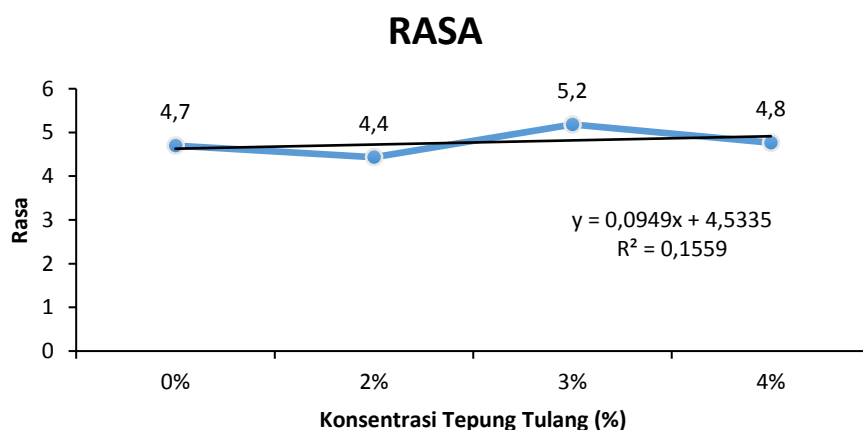
Bila dibandingkan dengan kadar kalsium biskuit komersial, kadar kalsium biskuit bebas gluten dan kasein lebih tinggi, dimana kadar kalsium biskuit komersial yang diperoleh sebesar 2%. Perbedaan kadar kalsium yang diperoleh biskuit bebas gluten dan kasein dengan biskuit komersial dikarenakan adanya penambahan tepung tulang ikan barakuda sebagai sumber kalsium pada biskuit bebas gluten dan kasein sehingga kadar kalsium yang dihasilkan lebih tinggi.

### 4.1.2.3 Karakteristik Organoleptik Biskuit

#### 4.1.2.3.1 Rasa

Menurut Setiawan (2008), pada uji organoleptik, rasa merupakan indikator terpenting yang terdapat pada produk. Uji organoleptik terhadap rasa bertujuan untuk mengetahui tingkat respon dari panelis mengenai kesukaannya terhadap biskuit yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan. Cita rasa makanan merupakan salah satu faktor penentu bahan makanan (Rudianto *et al.*, 2014).

Hasil dari uji organoleptik rasa biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 3% sebesar 5,2 sedangkan nilai terendah diperoleh pada perlakuan 2% sebesar 4,4. Hasil analisa *Kruskal-Wallis* pada Lampiran 13 menunjukkan bahwa P value < batas kritis (0,05) yang artinya penambahan tepung tulang ikan barakuda berbeda nyata terhadap rasa biskuit. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap rasa biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 9. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Rasa Biskuit

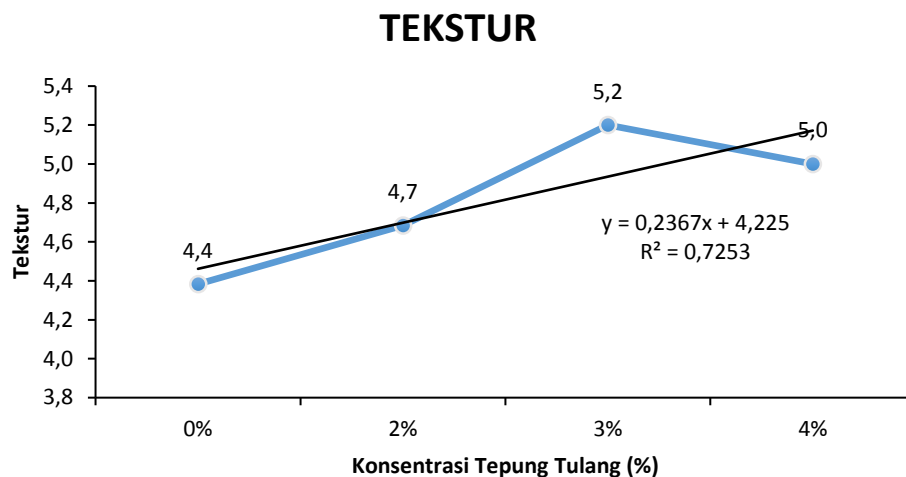
Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap rasa biskuit menunjukkan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 0,0949x + 4,5335$

dengan nilai  $R^2 = 0,1559$ . Hal ini berarti bahwa nilai rasa pada biskuit bebas gluten dan kasein dengan nilai koefisien 0,1559 artinya 15,59% rasa biskuit dipengaruhi oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda. Menurut Kaya (2008), kandungan kalsium dan fosfor yang tinggi dari tepung tulang ikan mengakibatkan *after taste* yaitu sedikit terasa berkapur, namun secara keseluruhan rasa biskuit yang dihasilkan masih dapat diterima oleh panelis. Berdasarkan hasil pengujian hedonik tekstur biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapat rerata antara 4,4 - 5,2 yang menunjukkan bahwa panelis rata-rata menyukai rasa biskuit yang dihasilkan.

#### **4.1.2.3.2 Tekstur**

Pada *cookies*, tekstur merupakan atribut produk yang penting karena *cookies* biasanya dinilai dari teksturnya. Tekstur *cookies* meliputi kerenyahan, kemudahan untuk dipatahkan, dan konsistensi pada gigitan pertamanya (Fellows, 2000). Tekstur berpengaruh terhadap tingkat kerenyahan dari biskuit bebas gluten dan kasein.

Hasil dari uji organoleptik tekstur biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 3% sebesar 5,2 sedangkan nilai terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 4,4. Hasil analisa *Kruskal-Wallis* pada Lampiran 14 menunjukkan bahwa P value < batas kritis (0,05) yang artinya penambahan tepung tulang ikan barakuda berbeda nyata terhadap tekstur biskuit. Hal ini menunjukkan bahwa panelis dapat membedakan tekstur biskuit yang ditambahkan tepung tulang ikan barakuda dengan konsentrasi yang berbeda. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap tekstur biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 10. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Tekstur Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap tekstur biskuit menunjukan positif. Persamaan regresinya adalah  $y = 0,2367x + 4,225$  dengan nilai  $R^2 = 0,7253$ . Hal ini berarti bahwa nilai tekstur pada biskuit bebas gluten dan kasein meningkat dengan nilai koefisien 0,7253 yang artinya 72,53% tekstur biskuit dipengaruhi oleh penambahan tepung tulang ikan barakuda.

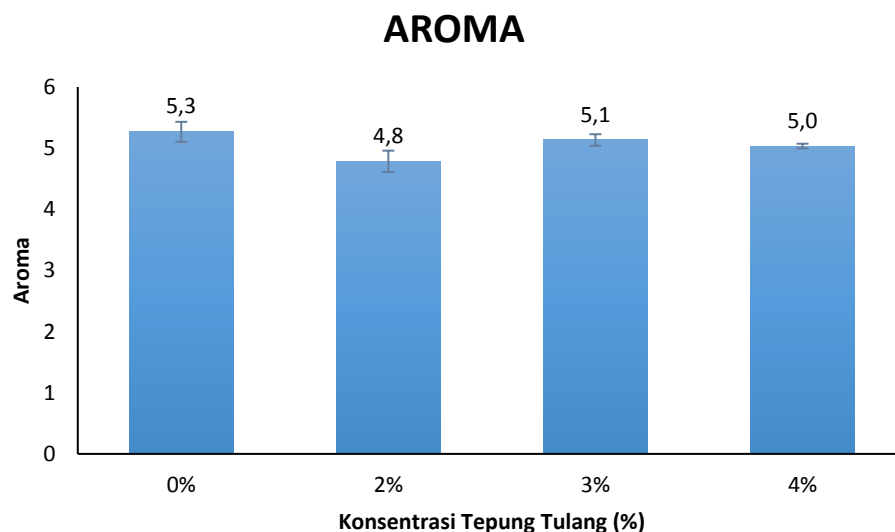
Berdasarkan hasil pengujian hedonik tekstur biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapat rerata antara 4,4 - 5,2 yang menunjukan bahwa panelis rata-rata menyukai tekstur biskuit yang dihasilkan. Rerata tertinggi diperoleh dari biskuit perlakuan 3%, hal tersebut menunjukan bahwa panelis menyukai biskuit yang bertekstur lebih renyah. Sedangkan rerata terendah diperoleh dari biskuit perlakuan 0%, dimana panelis tidak begitu menyukai tekstur biskuit yang rapuh dan terlalu mudah hancur.

#### 4.1.2.3.3 Aroma

Aroma makanan banyak menentukan lezatnya makanan, oleh karena itu aroma merupakan salah satu faktor dalam penentuan mutu. Winarno (1997) aroma adalah bau yang ditimbulkan oleh rangsangan kimia yang tercium oleh

syaraf-syaraf yang berada dalam rongga hidung. Aroma mempengaruhi penerimaannya.

Hasil dari uji organoleptik aroma biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 0% sebesar 5,3 sedangkan nilai terendah diperoleh pada perlakuan 2% sebesar 4,8. Hasil analisa *Kruskal-Wallis* pada Lampiran 15 menunjukkan bahwa P value > batas kritis (0,05) yang artinya penambahan tepung tulang ikan barakuda tidak berbeda nyata terhadap aroma biskuit. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap aroma biskuit dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 11. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Aroma Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap aroma biskuit menunjukkan bahwa seiring dengan adanya penambahan tepung tulang ikan terhadap tingkat aroma biskuit bebas gluten dan kasein tidak memberikan pengaruh yang nyata. Hal ini disebabkan karena tepung tulang ikan telah

mendapat perlakuan penghilangan lemak sehingga tepung dihasilkan tidak berbau.

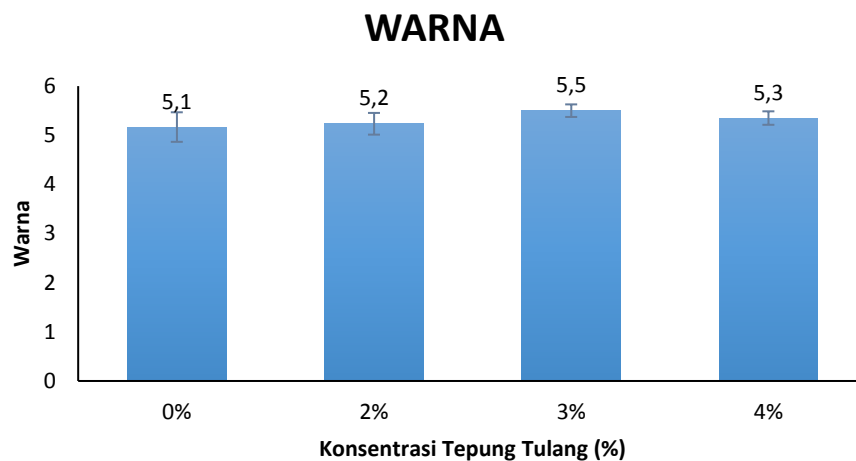
Selain itu hal ini dikarenakan panelis tidak mampu membedakan aroma biskuit bebas gluten dan kasein yang ditambahkan tepung tulang ikan barakuda yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Winarno (2002) aroma adalah rasa dan bau yang sangat subyektif serta sulit diukur, karena setiap orang mempunyai sensitifitas dan kesukaan yang berbeda. Senyawa yang sangat berbeda struktur kimianya, mungkin menimbulkan aroma yang sama. Berdasarkan hasil pengujian hedonik aroma biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapat rerata antara 4,8 - 5,3 yang menunjukan bahwa panelis rata-rata menyukai aroma biskuit yang dihasilkan.

#### **4.1.2.3.4 Warna**

Secara visual warna sangat menentukan suatu pangan diterima atau tidak oleh masyarakat atau konsumen. Makanan yang memiliki rasa enak, bergizi dan bertekstur baik belum tentu akan disukai oleh konsumen apabila bahan pangan tersebut memiliki warna yang tidak sedap dipandang atau menyimpang dari warna yang seharusnya (Winarno, 2004).

Hasil dari uji organoleptik warna biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapatkan rerata tertinggi pada perlakuan penambahan tepung tulang sebanyak 3% sebesar 5,5 sedangkan nilai terendah diperoleh pada perlakuan 0% sebesar 5,2. Hasil analisa *Kruskal-Wallis* pada Lampiran 16 menunjukan bahwa P value > batas kritis (0,05) yang artinya penambahan tepung tulang ikan barakuda tidak berbeda nyata terhadap warna biskuit. Hubungan konsentrasi penambahan tepung tulang barakuda terhadap warna biskuit dapat dilihat pada Gambar 15.





Gambar 12. Grafik Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Barakuda Terhadap Warna Biskuit

Grafik hubungan antara penambahan tepung tulang ikan terhadap warna biskuit menunjukkan bahwa seiring dengan adanya penambahan tepung tulang ikan terhadap tingkat warna biskuit bebas gluten dan kasein tidak memberikan pengaruh yang nyata. Hal ini mungkin disebabkan karena panelis tidak dapat membedakan warna biskuit masing-masing perlakuan karena warna yang ditampilkan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil pengujian hedonik warna biskuit bebas gluten dan kasein dengan penambahan tepung tulang ikan barakuda didapat rerata antara 5,2 - 5,5 yang menunjukkan bahwa panelis rata-rata menyukai warna biskuit yang dihasilkan.

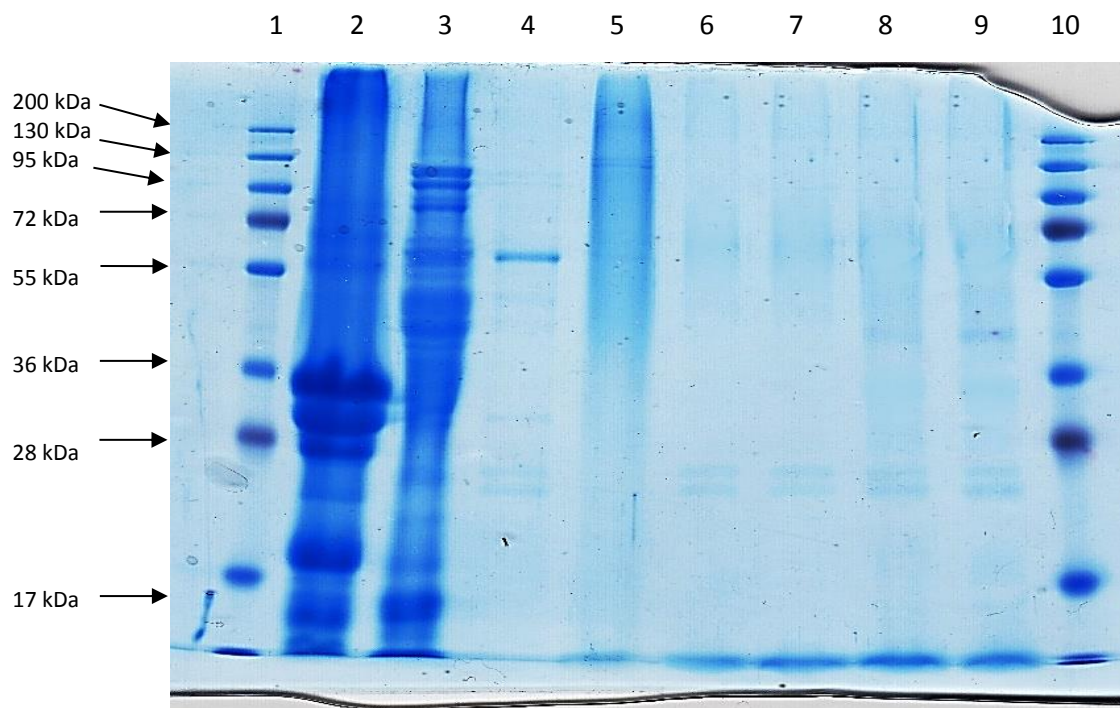
Warna dari produk akhir yang dihasilkan dapat dipengaruhi dari bahan-bahan yang ditambahkan selama proses pembuatan biskuit. Pada produk biskuit bebas gluten dan kasein ini, penambahan tepung tulang tidak berpengaruh nyata terhadap warna biskuit. Warna biskuit dapat dipengaruhi dengan adanya penambahan tepung maizena yang memberikan warna terang pada produk (Wahdini *et al.*, 2014), margarin dan gula fruktosa. Menurut Tjokroadikoesoemo

(1986) fruktosa akan menghasilkan warna produk yang baik karena sifat fruktosa yaitu pada suhu 60°C akan mengalami *browning*.

#### **4.1.2.4 Analisa Profil Protein Gluten dan Kasein**

Dari hasil elektroforesis akan didapatkan pita-pita protein yang terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama yang berada pada posisi pita yang sama (Tanjung dan Kusnadi, 2015). Hal ini sejalan dengan prinsip pergerakan molekul bermuatan, yakni molekul bermuatan dapat bergerak bebas di bawah pengaruh medan listrik, molekul dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang sama atau berdekatan (Sudarmadji *et al.*, 1996).

Pemisahan protein dengan metode elektroforesis bertujuan untuk melihat ada tidaknya profil protein gluten dan kasein pada produk biskuit yang dihasilkan. Pada saat pewarnaan gel, semakin tinggi konsentrasi protein maka pita yang dihasilkan akan tampak lebih jelas dan tebal. Sedangkan jumlah pita yang terbentuk menunjukkan jenis protein penyusun. Semakin banyak jumlah pita yang terbentuk maka jenis protein penyusun suatu bahan semakin banyak (Tanjung dan Kusnadi, 2015). Berikut hasil SDS-PAGE protein sampel biskuit bebas gluten dan kasein dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 13. Scan Elektroforesis Marker, Biskuit, Bahan, Kontrol Positif Gluten & Kasein

Dalam pemisahan protein ini marker yang digunakan yaitu marker protein prestain. Adapun jumlah sumuran yang terdapat pada uji ini berjumlah 9 sumuran dengan keterangan sebagai berikut :

1. Sumur 1 : Marker protein prestain
2. Sumur 2 : Kontrol Positif Kasein (Susu Sapi)
3. Sumur 3 : Kontrol Positif Gluten (Tepung Terigu)
4. Sumur 4 : Tepung Tulang Barakuda
5. Sumur 5 : Tepung Jagung
6. Sumur 6 : Biskuit 4% (Perlakuan 4)
7. Sumur 7 : Biskuit 3% (Perlakuan 3)
8. Sumur 8 : Biskuit 2% (Perlakuan 2)
9. Sumur 9 : Biskuit 0% (Perlakuan 1)

Hasil SDS-PAGE dapat diketahui bahwa pita protein pada sampel biskuit perlakuan sangat tipis dan jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan pita-

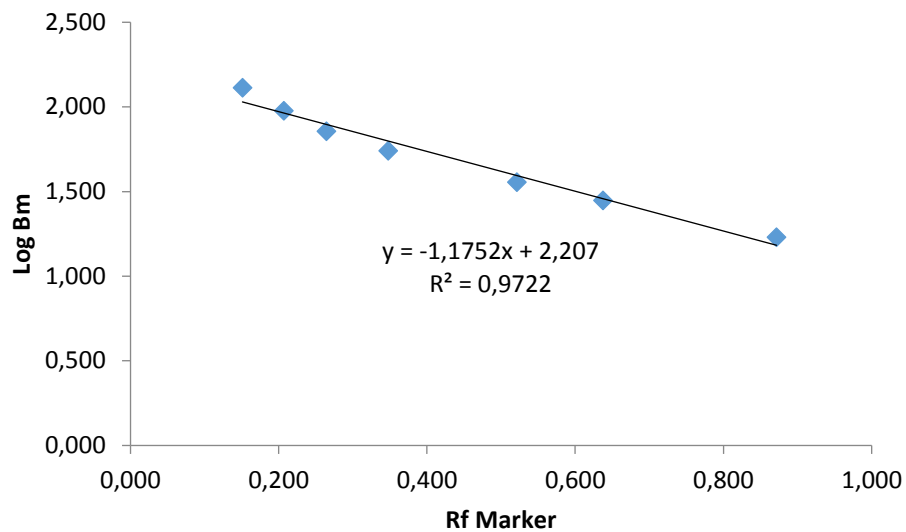
pita bahan baku yaitu tepung maizena dan tepung tulang ikan. Hal ini dapat disebabkan karena tepung maizena dan tepung tulang ikan pada saat pembuatan biskuit mendapat perlakuan suhu tinggi kembali yaitu pada proses pemanggangan yang sebelumnya mendapat perlakuan suhu tinggi pada proses pembuatan tepung sehingga menyebabkan protein dalam produk menjadi rusak sehingga jumlahnya lebih rendah.

Untuk mengetahui jenis protein yang dihasilkan oleh pita tiap sumuran dilakukan penghitungan berat molekul tiap pita protein dengan menghitung Rf (*retardation factor*). Penentuan molekul relatif protein dilakukan dengan menghitung nilai Rf (*retardation factor*) dari masing-masing pita yaitu dengan membagi total jarak *tracking* dari *stacking gel* ke *separating gel* (a) dibandingkan jarak *tracking* dari *stacking gel* ke masing-masing pita protein yang terbentuk (b). Sebelumnya perlu diketahui persamaan regresi linier antara Rf marker protein dengan log BM. Berikut ini adalah berat molekul, nilai a, b, Rf dan log BM dari marker protein prestain pada Tabel 11.

Tabel 4. Berat Molekul, Nilai a, b, Rf dan Log BM Marker Protein Prestain

Berat Molekul Marker (kDa)	a	b	Rf	log BM
200	0,69	6,62	0,104	2,301
130	1	6,62	0,151	2,114
95	1,37	6,62	0,207	1,978
72	1,75	6,62	0,264	1,857
55	2,3	6,62	0,347	1,740
36	3,45	6,62	0,521	1,556
28	4,22	6,62	0,637	1,447
17	5,77	6,62	0,872	1,230

Dari tabel diatas dapat diketahui jumlah pita yang terbentuk pada marker protein prestain sehingga dapat diketahui persamaan regresi linier antara Rf marker dengan log BM yang dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 14. Persamaan Regresi Linier antara Rf Marker dengan Log BM

Kurva standar yang dihasilkan memiliki persamaan linier  $y = -1,1752x + 2,207$  ( $R^2 = 0,9722$ ). Nilai y merupakan log berat molekul (BM) dan x adalah Rf (rasio antara panjang pita dari titik awal elektroforesis dengan total jarak titik awal ke titik akhir elektroforesis). Koefisien ( $R^2$ ) untuk melihat apakah suatu model regresi yang dicocokkan sudah memadai dan dapat mengukur proporsi dari jumlah variasi yang dapat diterangkan dengan model regresi. Dari persamaan tersebut, kemudian dapat ditentukan berat molekul dari pita protein yang dihasilkan tiap sumuran sehingga jenis protein pada pita yang terbentuk dapat diketahui. Berikut adalah rumus perhitungan berat molekul dengan menggunakan yang telah diperoleh.

$$y = -1,1752x + 2,207$$

Berat Molekul = anti log y

Keterangan:

y = log BM (berat molekul)

x = *Retardation Factor* (Rf)

Berikut jumlah pita yang terbentuk pada masing-masing sampel biskuit dan bahan baku, nilai a, b, Rf, log berat molekul dan berat molekul dari tiap sumuran pada Tabel 12.

Tabel 5. Jumlah Pita dan Berat Molekul Sampel Biskuit dan Bahan Baku

Sumur	A	b	Rf	Log BM	BM (kDa)
4	1,14	6,62	0,172	2,005	101,078
	1,27	6,62	0,192	1,982	95,848
	2,12	6,62	0,320	1,831	67,720
	2,59	6,62	0,391	1,747	55,885
	2,92	6,62	0,441	1,689	48,834
	4,53	6,62	0,684	1,403	25,291
	4,78	6,62	0,722	1,359	22,834
5	0,99	6,62	0,150	2,031	107,469
	1,04	6,62	0,157	2,022	105,295
	2,08	6,62	0,314	1,838	68,836
6	4,53	6,62	0,684	1,403	25,291
	4,78	6,62	0,722	1,359	22,834
7	4,53	6,62	0,684	1,403	25,291
	4,78	6,62	0,722	1,359	22,834
8	3	6,62	0,453	1,675	47,263
	4,23	6,62	0,639	1,456	28,590
	4,53	6,62	0,684	1,403	25,291
	4,78	6,62	0,722	1,359	22,834
9	3,01	6,62	0,455	1,673	47,070
	4,53	6,62	0,684	1,403	25,291
	4,78	6,62	0,722	1,359	22,834

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa jumlah pita protein tiap sampel biskuit lebih sedikit daripada pita protein tepung tulang ikan dan tepung maizena. Pada sumur 6 dan 7 (perlakuan 3% dan 4%) memiliki 2 pita, sedangkan pada sumur 9 (perlakuan 0%) memiliki 3 pita dan pada sumur 8 (perlakuan 2%). Pada sumur 4 yaitu tepung maizena memiliki 7 pita dan pada sumur 5 yaitu tepung tulang ikan barakuda memiliki 3 pita protein. Pada tepung maizena dan tepung tulang ikan barakuda terdapat lebih banyak pita dibandingkan pita pada produk

biskuit. Hal ini menunjukkan bahwa jenis protein penyusun tepung maizena dan tepung tulang ikan barakuda lebih banyak.

Tebal tipisnya pita yang terbentuk menunjukkan konsentrasi protein pada produk biskuit, hal ini menunjukkan bahwa protein pada tepung tulang ikan dan tepung maizena lebih banyak dari sampel biskuit. Tepung tulang ikan barakuda walaupun jumlah pita yang dihasilkan lebih tipis, tetapi memiliki pita lebih tebal dari tepung maizena, dimana hal ini sesuai dengan hasil uji kadar protein tepung tulang ikan barakuda yang diperoleh sebesar 5,19% dibandingkan kadar protein tepung maizena menurut Merdiyanti (2008) sebesar 0,54%.

Hasil perhitungan berat molekul pada masing-masing sampel biskuit kemudian dibandingkan dengan hasil perhitungan kisaran berat molekul pada kontrol gluten dan kasein. Dimana kontrol gluten yang digunakan merupakan hasil isolasi gluten dari tepung terigu komersial dan kontrol kasein yang digunakan merupakan hasil isolasi kasein dari susu sapi segar. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada Tabel 13. yaitu jumlah pita protein, nilai a, b, Rf, log BM dan berat molekul dari kontrol gluten dan kasein.

Tabel 6. Jumlah Pita dan Berat Molekul Kontrol Gluten dan Kasein

Sumur	A	b	Rf	Log BM	BM (kDa)
2	1,51	6,62	0,228	1,939	86,893
	1,88	6,62	0,284	1,873	74,699
	2,22	6,62	0,335	1,813	65,008
	3,71	6,62	0,560	1,549	35,359
	4,11	6,62	0,621	1,478	30,027
	4,37	6,62	0,660	1,431	27,000
	4,85	6,62	0,733	1,346	22,190
	5,65	6,62	0,853	1,204	16,002
	5,8	6,62	0,876	1,178	15,050
	6,26	6,62	0,946	1,096	12,471
3	2,31	6,62	0,349	1,797	62,660
	1,3	6,62	0,196	1,976	94,680
	1,44	6,62	0,218	1,951	89,415
	1,55	6,62	0,234	1,932	85,484
	1,89	6,62	0,285	1,872	74,394
	2,06	6,62	0,311	1,841	69,401
	2,2	6,62	0,332	1,817	65,542
	2,31	6,62	0,349	1,797	62,660
	2,62	6,62	0,396	1,742	55,204
	2,72	6,62	0,411	1,724	52,993
	2,98	6,62	0,450	1,678	47,651
	3,12	6,62	0,471	1,653	45,001
	3,42	6,62	0,517	1,600	39,809
	3,84	6,62	0,580	1,525	33,530
	4,01	6,62	0,606	1,495	31,279
	4,62	6,62	0,698	1,387	24,377
	5,11	6,62	0,772	1,300	19,953
	5,65	6,62	0,853	1,204	16,002
	6,18	6,62	0,934	1,110	12,885

Dari hasil analisa kisaran nilai BM dari kontrol gluten yaitu 12,885 – 94,680 kDa dan kisaran nilai BM dari kontrol kasein yaitu 12,471 - 86,893 kDa. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada fraksi protein kontrol gluten dan kasein terdeteksi adanya gluten dengan berat molekul 36-38 kDa, 42– 44 kDa (Jakubauskiene dan Juodeikiene, 2005) serta kasein dengan berat molekul 37 kDa ( $\alpha$ -kasein), 33 kDa ( $\beta$ -kasein) dan 46 kDa ( $\kappa$ -kasein) (Nitsche, 2011). Bila dibandingkan dengan tabel kontrol gluten dan kasein dapat diketahui bahwa



protein gluten dan kasein tidak terdapat pada masing-masing sampel biskuit dan juga pada tepung maizena serta tepung tulang ikan barakuda. Hal ini ditunjukkan pada berat molekul pita pada sampel biskuit, tepung maizena dan tepung tulang ikan yang tidak masuk dalam kisaran berat molekul pita kontrol gluten dan kasein.

#### **4.2 Hasil Perlakuan Terbaik (De Garmo)**

Perlakuan penentuan perlakuan terbaik pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode De Garmo. Tujuan penentuan perlakuan terbaik dalam penelitian ini untuk mengetahui perlakuan penambahan tepung tulang ikan barakuda terbaik dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein. Hal tersebut dinyatakan pada nilai produk tertinggi yang diperoleh dengan mempertimbangkan semua parameter yang berperan dalam menentukan mutu tepung tulang ikan barakuda. Pembobotan didasarkan pada penilaian yang diberikan panelis.

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan penambahan tepung tulang ikan sebesar 3%. Hal ini dikarenakan adanya penambahan tepung tulang ikan barakuda dalam pembuatan biskuit bebas gluten dan kasein menyebabkan penurunan kadar air serta peningkatan kadar abu, sehingga biskuit yang dihasilkan memiliki tekstur yang lebih keras. Hasil penentuan perlakuan terbaik dengan metode De Garmo dapat dilihat pada Lampiran 18.

Berdasarkan hasil pembobotan parameter yang ditunjukkan pada Lampiran 18, parameter yang paling penting dalam menentukan mutu biskuit adalah kekerasan. Hal ini dikarenakan kekerasan merupakan parameter yang menunjukkan adanya interaksi seluruh komponen bahan yang menyatu dalam sebuah jaringan tertentu yang dapat dinilai dari struktur kekompakan biskuit. Dengan mengetahui nilai kekerasan suatu biskuit, dapat diketahui pula parameter biskuit lainnya. Semakin besar kadar kekerasan suatu biskuit, semakin rendah

kadar air yang terkandung dalam biskuit. Parameter kedua terpenting dalam menentukan mutu biskuit adalah kadar air. Kadar air sama halnya dengan kekerasan yaitu berkaitan dengan parameter lainnya seperti protein, kalsium dalam menentukan suatu gizi biskuit. Selain itu, kadar air juga berpengaruh terhadap karakteristik fisik biskuit, sehingga kadar air dalam suatu biskuit perlu diperhatikan.

Selanjutnya, parameter ketiga adalah kadar abu dan kadar kalsium. Penempatan kedua faktor tersebut pada level yang sama dikarenakan kedua faktor tersebut saling berkaitan, dimana besarnya nilai kadar abu menunjukkan tingkat kadar kalsium pada suatu produk. Pada posisi keempat dan kelima adalah daya patah dan tekstur. Daya patah dan tekstur memiliki kepentingan yang sama, kedua parameter ini saling berkaitan. Daya patah sangat penting untuk mengetahui karakteristik tekstur dari kerapuhan dan kerenyahan produk.

Selain itu, parameter keenam adalah kadar lemak. Kadar lemak perlu diperhatikan karena kadar lemak dapat mempengaruhi mutu suatu produk. Semakin besar kadar lemak biskuit, maka kualitas suatu biskuit semakin rendah karena mudah rusak atau terjadi ketengikan. Selanjutnya, parameter ketujuh adalah rasa. Rasa merupakan parameter yang perlu diperhatikan selain tekstur biskuit. Rasa mengetahui tingkat kesukaan suatu produk. Kemudian pada posisi kedelapan dan sembilan adalah kadar protein dan karbohidrat. Kedua parameter memiliki kepentingan yang sama. Kadar protein suatu biskuit dan karbohidrat berkaitan dengan parameter lainnya, salah satunya kekerasan. Selanjutnya parameter ke sepuluh dan sebelas adalah aroma dan warna. Kedua faktor tersebut merupakan bagian dari rangkaian uji organoleptik. Dalam biskuit dengan penambahan tulang ikan, aroma amis dari tulang ikan harus diperhatikan sehingga

diperlukan penambahan bahan lain yang dapat meningkatkan nilai aroma suatu biskuit.